

UNE TECHNIQUE DE PRÉPARATION DES GRAINS DE POLLEN FRAGILES

par Aline et Jean RAYNAL

Ayant entrepris une étude palynologique de la famille des Cypéracées, l'un de nous constata très vite que les procédés habituels de préparation des grains pour l'observation au microscope photonique donnaient, dans ce cas précis, des résultats très médiocres, dus à la conjugaison de plusieurs facteurs défavorables :

— Rareté du pollen dans une inflorescence de Cypéracée à un instant donné (donc dans un spécimen d'herbier); en effet, si les épis de Cypéracées sont généralement multiflores, nous avons constaté que, dans la plupart des cas, l'évolution de la fleur au moment de l'anthèse est très rapide; la maturation des anthères est tardive, et précède immédiatement exsertion et déhiscence; le pollen anémochore est dispersé de façon très complète, pratiquement rien ne demeure sur les anthères ouvertes. Il en résulte que très souvent un épi même multiflore n'offre que quelques fleurs aptes à fournir un matériel pollinique correct. Les fleurs, de plus, ne comptent que 1-3 étamines linéaires de dimensions réduites (généralement longues de 0,2 à 2 mm).

Le simple traitement d'inflorescences entières, aux pièces toutes scarieuses ou sclérifiées, par les méthodes d'attaque classiques est donc peu rémunérateur, le volume de débris de toutes sortes et pollen immature étant considérable.

Bien entendu, la meilleure méthode de prélèvement reste, dans ces conditions, la récolte de pollen pur, étalée sur plusieurs jours ou sur un grand nombre d'inflorescences, sur matériel vivant. Ce moyen nous a permis de préparer des Cypéracées européennes ou cultivées, mais reste d'application difficile pour l'immense majorité des espèces tropicales, dont l'étude indispensable, doit se fonder sur le seul matériel d'herbier disponible.

Il faut donc réussir à prélever, en herbier, des étamines mûres non ouvertes, donc non exsertes, ce qui revient à disséquer des inflorescences en nombre forcément limité. Cette méthode, pour des raisons variées, ne peut généralement fournir une quantité de pollen suffisante pour un traitement normal par centrifugation.

— Fragilité extrême du pollen dans la plupart des cas : même en se plaçant dans les meilleures conditions initiales (pollen frais, pur, abondant) les résultats d'une attaque acétolytique normale (méthode ERDMANN) suivie de centrifugation sont toujours décevants : les grains sont fêtrés, fortement déformés, brisés, l'exine est corrodée, etc...

— Difficulté, malgré tout, de vider convenablement les grains de leur contenu cytoplasmique, en rapport sans doute avec l'absence généralisée d'ouvertures bien définies; cette même absence d'ouvertures semble en outre concourir aux fortes déformations enregistrées sous l'effet du rinçage à l'alcool.

Nous avons dû, en conséquence, mettre au point une méthode particulière à ces pollens rares et fragiles, qui se caractérise essentiellement par :

— un travail effectué entièrement sur lame, sans centrifugation ni même transfert du pollen.

— une attaque ménagée, ne détruisant pas l'exine mais suffisante pour vider convenablement les grains.

Cette attaque ménagée est obtenue par le remplacement, dans le mélange acétolytique, d'une fraction de l'anhydride acétique par de l'acide lactique. Après divers essais à des concentrations variées, nous avons arrêté notre choix sur deux mélanges qui nous ont paru donner les meilleurs résultats pour cette *acétolyse lactique* :

1. « ACLAC 40 »	acide sulfurique	10
	anhydride acétique	50
	acide lactique	40

convenant aux grains assez résistants, à exine tectée par exemple, demandant une attaque relativement énergique pour être vidés.

2. « ACLAC 60 »	acide sulfurique	10
	anhydride acétique	30
	acide lactique	60

produisant une attaque très mélangée convenant aux grains les plus fragiles.

L'ensemble des opérations se décompose comme suit :

1) Si l'on opère sur herbier, regonflage des tissus à l'eau presque bouillante.

2) Dissection des inflorescences permettant l'extraction, à la pince fine, du plus grand nombre possible d'anthers mûres.

3) Ouverture et dissection des anthers sur la lame porte-objet, dans une goutte de mélange ACLAC.

4) Chauffage modéré à 50-60° sur platine chauffante. Les progrès de l'attaque acétolytique peuvent être suivis de temps en temps par examen microscopique. L'attaque est en principe complète quand le matériel pollinique a pris une teinte ambrée plus ou moins foncée. Le contrôle au microscope reste préférable, car la durée de traitement varie beaucoup selon les espèces.

5) Rincer à l'alcool éthylique à 95°, déposé goutte à goutte au centre



Fig. 1. — Pollens fragiles préparés selon deux techniques différentes : à gauche, *Cyperus conglomeratus*, pollen ayant subi une acétolyse classique; à droite, *C. Aucheri*, pollen après une acétolyse lactique ménagée.

de la lame. Les gouttes doivent être très petites, et la lame refroidie, si l'on veut éviter une dispersion du pollen.

Le mélange acétolytique estérifié se rassemble en gouttelettes d'aspect gras à la périphérie de la lame. Éponger ces gouttelettes en respectant l'amas pollinique central, et poursuivre le rinçage sans jamais laisser évaporer à sec.

6) Réhydrater à l'eau, à 40-50°; cette phase est rendue nécessaire par l'action néfaste de l'alcool sur les grains qui, soumis sans doute à une forte dépression osmotique interne, s'effondrent. Suivre cette phase au microscope sans jamais laisser évaporer à sec.

7) Quand les grains sont convenablement regonflés, monter à la gélatine glycerinée et luter à la paraffine.

La phase 5 est la plus délicate; de son déroulement dépend généralement la qualité de la préparation. Il faut une certaine habitude pour effectuer un rinçage ni trop prononcé, qui entraînerait la perte d'une grande partie des grains, ni trop timide, qui nettoierait insuffisamment les résidus de l'acétolyse. De plus, comme indiqué plus haut, il faut parvenir à compenser, dans la phase 6, la déformation prononcée qu'inflige aux grains l'alcool éthylique. L'idéal serait de découvrir une autre technique de rinçage faisant intervenir un produit dépourvu de l'action osmotique de l'alcool. Un tel perfectionnement serait d'un grand intérêt dans le cas des grains inaperturés à exine très mince, les plus affectés par les méthodes actuelles.

Les photographies ci-contre, illustrant les résultats obtenus d'une part avec la méthode d'ERDTMANN pour *Cyperus conglomeratus*, d'autre part avec l'acétolyse lactique pour l'espèce très affine *Cyperus Aucheri*, montrent la différence de qualité obtenue dans le montage des grains de pollen de ces espèces.

Laboratoire de Phanérogamie
Muséum PARIS